

**МУЛЬТИФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ
ОКСИДА ЦЕРИЯ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ МАЛЬТОДЕКСТРИНОМ***Офицерова Н.Ю., Бажукова И.Н.*

Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н.

Ельцина, Екатеринбург, Россия

n.ofitserova@mail.ru, i.n.sedunova@urfu.ru

Аннотация. Наночастицы оксида церия способны выполнять функцию целого ряда ферментов (каталаза, супероксиддисмутаза, пероксидаза и т.п.) и могут быть классифицированы как нанозимы. В работе проведен обзор фактических данных о ферментативной миметической активности наночастиц диоксида церия. Исследована способность наночастиц диоксида церия проявлять мультиферментативную активность и выполнять функции естественных энзимов: каталазы, пероксидазы, оксидазы.

Ключевые слова: наночастицы диоксида церия, мультиферментативная активность, антиоксидантные свойства, прооксидантные свойства, окислительный стресс, мальтодекстрин.

**MULTI-ENZYMATIC ACTIVITY OF MALTODEXTRIN-COATED
CERIUM OXIDE NANOPARTICLES***Ofitserova N. Yu., Bazhukova I.N.*

Ural Federal University named after the first President of Russia

B. N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia

Abstract. Cerium oxide nanoparticles can perform the function of several enzymes (catalase, superoxide dismutase, peroxidase, etc.) and be classified as nanozymes. The paper reviews the data on enzyme-like mimetic activity of cerium dioxide nanoparticles. The ability of cerium dioxide nanoparticles to exhibit multi-enzymatic activity and perform the functions of natural enzymes: catalase, peroxidase, oxidase is studied.

Key words: cerium dioxide nanoparticles, multi-enzymatic activity, antioxidant properties, prooxidant properties, oxidative stress, maltodextrin.

1. ВВЕДЕНИЕ

Нанотехнологии и наноматериалы считаются основой современного научно-технического прогресса и общества. Нанокристаллический диоксид церия является перспективным материалом с точки зрения применения в биомедицинских целях, таких как биовизуализация, антиоксидантная терапия,

адресная доставка лекарств, тераностика онкологических заболеваний, создание хемо- и биосенсоров.

Особый интерес для изучения представляет антиоксидантный потенциал наночастиц диоксида церия (НДЦ), так как задаче защиты организма от окислительного стресса, являющегося причиной нейродегенеративных, кардиологических и других заболеваний, уделяется в настоящее время большое внимание [1]. Благодаря своим уникальным физико-химическим свойствам НДЦ способны выполнять функции различных ферментов естественной антиоксидантной системы организма, тем самым предотвращая повреждающее действие активных форм кислорода (АФК).

Наряду с исследованиями, демонстрирующими способность наночастиц CeO_2 нейтрализовать активные формы кислорода, существуют работы, свидетельствующие о том, что НДЦ проявляют прооксидантные свойства [2] либо вообще являются каталитически неактивными по отношению к клеткам [3]. Закономерности, связывающие биологическую активность наночастиц с их физико-химическими свойствами, требуют тщательного изучения.

Целью работы является обзор и анализ фактических данных о мультиферментативной активности наночастиц CeO_2 , а также исследование подобной активности для наночастиц CeO_2 , стабилизированных мальтодекстрином.

2. ОБЗОР ИМЕЮЩИХСЯ ДАННЫХ О СВОЙСТВАХ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

2.1. Физико-химические свойства наночастиц диоксида церия

Высокая биологическая активность нанокристаллического диоксида церия обусловлена, в первую очередь, строением его кристаллической решетки. Наличие в ней кислородных вакансий и смешанных валентных состояний Ce^{3+} и Ce^{4+} обуславливает активность НДЦ в окислительно-восстановительных процессах и способность связывать реакционноспособные кислородсодержащие соединения и радикалы, губительные для живых систем.

Определяющим фактором с точки зрения возможного применения НДЦ в биомедицинской практике является токсичность. Она зависит от многих параметров, таких как размер, способы синтеза наночастиц, заряд поверхности (дзета-потенциал), pH среды. Эти факторы оказывают воздействие на строение и окислительно-восстановительную активность наночастиц. Многие исследования свидетельствуют о низкой токсичности наночастиц диоксида церия и сравнительной безопасности применения НДЦ *in vivo*, однако есть и работы, в которых утверждается обратное [4].

Среди специфических свойств НДЦ, благодаря которым он проявляет высокую биологическую активность, следует отметить способность к регенерации. После участия в окислительно-восстановительном процессе наночастицы CeO_2 за небольшой промежуток времени возвращаются к своему исходному состоянию.

2.2. Мультиферментативная активность наночастиц диоксида церия

Нанокристаллический диоксид церия является одним из наиболее ярких представителей нанозимов – наноматериалов, обладающих ферментоподобной активностью. НДЦ проявляют мультиферментативную активность, выполняя функции ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы и оксидазы.

НДЦ обладают как антиоксидантными, так и прооксидантными свойствами, их ферментоподобная активность определяется совокупностью факторов. Во-первых, это водородный показатель среды: прооксидантная активность НДЦ возникает при повышенной кислотности, а антиоксидантная активность с понижением pH уменьшается. Во-вторых, антиоксидантная активность определяется соотношением $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$, на которое, в свою очередь, оказывают влияние исходные реагенты и способ синтеза, размер наночастиц, стабилизация, легирование или функционализация НДЦ [5].

Супероксиддисмутазная активность – способность инактивировать супероксидный радикал O_2^- – была продемонстрирована для НДЦ одной из первых. Механизмы инактивации похожи в случае природного фермента и наночастиц CeO_2 : реакция протекает в две стадии, причем эффективная степень окисления церия остается неизменной.

Одним из конечных продуктов протекания этой реакции является H_2O_2 , который считается еще более опасной формой АФК, чем супероксид-радикал. НДЦ проявляют каталазную активность, разлагая пероксид водорода на нетоксичные воду и кислород.

Отмечается, что при понижении pH среды каталазная активность снижается и при $\text{pH} < 6$ НДЦ могут проявлять пероксидазоподобные свойства. В этом случае субстратом является не только сам пероксид водорода, но и неорганические или органические молекулы, которые им окисляются [5]. Пероксидаза использует перекись водорода в качестве акцептора электронов при участии в окислении биологических субстратов.

Причиной, по которой НДЦ проявляют прооксидантные свойства, является усиление окислительных свойств Ce^{4+} с понижением pH. Так, при $\text{pH} < 5$ НДЦ способны выполнять функции фермента оксидазы, которая катализирует реакции, где субстрат окисляется молекулярным кислородом с образованием воды, пероксида водорода или свободных кислородных радикалов.

Механизмы описанных реакций, в которых НДЦ проявляют свои редокс-свойства в реакциях с активными формами кислорода, представлены на обобщенной схеме (рисунок 1).

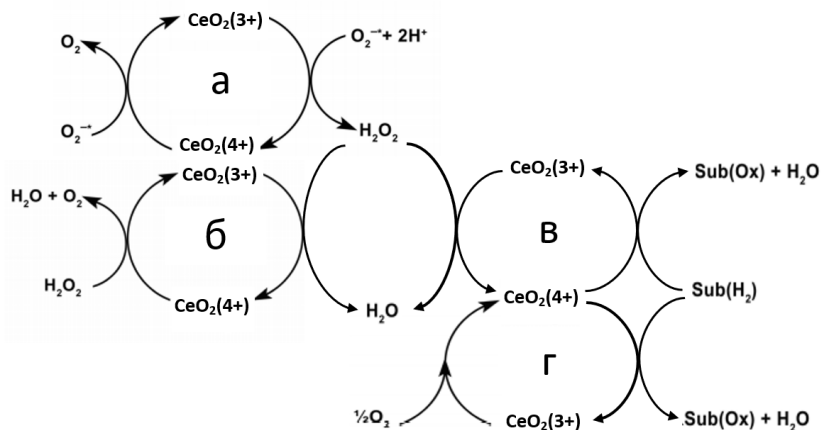


Рисунок 1 – Мультиферментативная активность НДЦ

а – супероксиддисмутазная активность; б – каталазная активность;
в – пероксидазная активность; г – оксидазная активность.

Обширный спектр проявляемой ферментативной активности нанокристаллического диоксида церия делает его перспективным с точки зрения возможного применения в биомедицинской практике. Однако для этого требуется дальнейшее более тщательное изучение его биологической активности, установление зависимостей между проявляемой активностью и физико-химическими свойствами наночастиц.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ МУЛЬТИФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ НДЦ

Исследование ферментативной активности проводилось для наночастиц, стабилизированных мальтодекстрином, полученных химическим методом осаждения [6]. Исследование проводили методом оптической спектроскопии.

Полученные результаты представлены на рисунке 2.

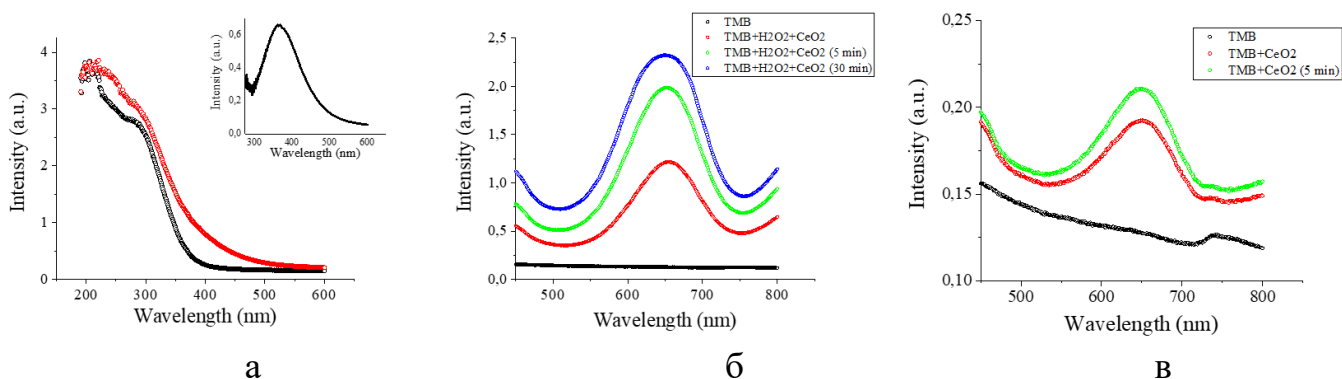


Рисунок 2 – Мультиферментативная активность наночастиц CeO_2 , стабилизированных мальтодекстрином

а - каталазная активность; б - пероксидазная активность; в - оксидазная активность.

Для исследования каталазной миметической активности наночастиц CeO_2 были проанализированы изменения, происходящие в спектрах их оптического поглощения после взаимодействия с пероксидом водорода H_2O_2 . Добавление пероксида водорода приводит к смещению края поглощения в область больших длин волн (рисунок 2, а). Так как ионы Ce^{4+} поглощают излучение в области меньше 400 нм, увеличение поглощения в данной области можно объяснить образованием на поверхности наночастиц ионов Ce^{4+} в результате взаимодействия ионов Ce^{3+} с H_2O_2 .

Пероксидазную миметическую активность наночастиц определяли, используя буферный раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) и пероксид водорода. Добавление пероксида водорода и наночастиц CeO_2 к раствору ТМБ приводит к его интенсивному окислению и появлению окрашенного комплекса, имеющего максимум поглощения при 652 нм (рисунок 2, б). Таким образом, можно сделать вывод о способности наночастиц CeO_2 имитировать поведение фермента пероксидазы.

Оксидазную миметическую активность наночастиц оценивали по изменению спектров оптического поглощения раствора ТМБ после добавления наночастиц CeO_2 . Вероятный механизм оксидазной активности наночастиц CeO_2 связан с окислением ионов Ce^{3+} , переносом электрона на молекулярный кислород и образованием супероксид аниона, который является сильным окислителем. Добавления наночастиц CeO_2 к раствору ТМБ приводит к его окислению (рисунок 2, в). Однако изменения оптической плотности раствора незначительное, поэтому можно сделать вывод о низкой оксидазной миметической активности наночастиц CeO_2 .

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в работе был проведен обзор данных о мультиферментативной активности наночастиц диоксида церия, которую он проявляет благодаря своим физико-химическим свойствам. В качестве основных факторов, влияющих на переход между разной биокаталитической активностью, выделяют водородный показатель среды и валентное соотношение $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхности наночастиц.

Проведенные эксперименты подтвердили, что нанокристаллический диоксид церия является многофункциональным нанозимом и способен проявлять функции нескольких ферментов: каталазы, пероксидазы и оксидазы. Однако в литературе в настоящее время присутствуют противоречивые данные о токсичности и биологической активности НДЦ, нет строго определенных взаимосвязей между физико-химическими свойствами и биологическим действием НДЦ. Более тщательное изучение этой темы, установление строгих

закономерностей и связей позволит реализовать широкий спектр биомедицинских применений нанокристаллического диоксида церия.

Библиографический список

1. Наноматериалы на основе диоксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине / А.Б. Щербаков, Н.М. Жолобак, В.К. Иванов и др. // Биотехнология. 2011. Т. 4. № 1. С. 9-28.
2. Pro-Oxidant Therapeutic Activities of Cerium Oxide Nanoparticles in Colorectal Carcinoma Cells / A. Datta, S. Mishra, K. Manna et al. // ACS Omega. 2020. V. 5. № 17. P. 9714-9723.
3. Brain Distribution and Toxicological Evaluation of a Systemically Delivered Engineered Nanoscale Ceria / S.S. Hardas, D.A. Butterfield, R. Sultana et al. // Toxicological Sciences. 2010. V. 116. № 2. P. 562-576.
4. О токсичности и прооксидантном эффекте наночастиц CeO_2 и SiO_2 (на модели *Danio rerio*) / Е.П. Мирошникова, Д.Б. Косян, А.Е. Аринжанов и др. // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 6. С. 921-928.
5. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия / А.Б. Щербаков, О.С. Иванова, Н.Я. Спивак и др. Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2016. 474 с.
6. Synthesis and study physicochemical properties of nanocrystalline ceria / Baksheev E. O. et al. // AIP Conference Proceedings. – AIP Publishing LLC, 2019. Т. 2174. №. 1. P. 020156.